



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

تهیه فرمولاسیون نیوزوم استنشاقی تنوفیلین و توسعه‌ی روش آنالیز آن  
با استفاده از حسگر حساس الکتروشیمیایی

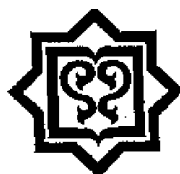
توسط:

محدثه محسنی

اساتید راهنما:

دکتر عباس پرداختی

دکتر سعید احمدزاده



**Kerman University of Medical Sciences  
Faculty of Pharmacy**

**Pharm. D Thesis**

**Title:**

**Preparation of pulmonary theophylline niosome formulation and  
development of its analysis method using a sensitive electrochemical  
sensor**

**By:**

**Mohadeseh Mohseni**

**Supervisors:**

**Dr. Abbas Pardakhty  
Dr. Saeid Ahmadzadeh**



## خلاصه

**مقدمه:** تئوفیلین دارویی با ساختار متیل زانتین است که برای درمان بیماری‌های انسدادی دستگاه تنفسی بکار می‌رود و پنجره‌ی درمانی باریکی دارد. برای رفع این مشکل می‌توان از سیستم‌های دارورسانی نوین استنشاقی برای آزادسازی پیوسته و اثربخشی بهتر داروها استفاده نمود. هدف از مطالعه حاضر محبوس‌سازی پودر تئوفیلین داخل نیوزوم‌ها و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی وزیکول‌های شکل گرفته و سپس ساخت یک حسگر الکتروشیمیایی جهت تعیین درصد محبوس‌سازی و آزادسازی توسعه خواهد یافت.

**روش‌ها:** ابتدا پودر تئوفیلین در حلال کلروفرم حل شد و به سورفکتانت‌های توئین و اسپن و کلسترویل اضافه گردید. برای فاز مائی از بافر فسفات با pH مناسب استفاده شد. توانایی شکل‌گیری نیوزوم‌ها توسط میکروسکوپ نوری و پراکندگی اندازه ذره‌ای با تکنیک پراش پرتو لیزر بررسی شد. پایداری وزیکول‌های تهیه شده در طول دو ماه مورد مطالعه قرار گرفت و آزادسازی دارو نیز با استفاده از سل انتشار فرانز ارزیابی شد. روش الکتروشیمیایی متناسب با ماده نیز جهت تعیین درصد محبوس‌سازی توسعه یافت.

**نتایج:** فرمولاسیون‌های تهیه شده از سورفکتانت‌های اسپن، توئین و کلسترویل با نسبت‌های متفاوت، در بررسی‌های میکروسکوپی نیوزوم‌های مناسبی از نظر سایز و تعداد ایجاد نمودند. توزیع اندازه ذره‌ای اکثر فرمولاسیون‌ها در رنج مناسبی قرار دارد و فرمولاسیون‌ها از پایداری مناسبی طی مدت دو ماه برخوردارند. آزادسازی نیوزوم‌ها از مدل انتشار هیگوچی تبعیت می‌کند. درصد بالایی از تئوفیلین درون نیوزوم‌ها به دام می‌افتد که ایده‌آل ما می‌باشد. حسگر الکتروشیمیایی توسعه یافته در مطالعه حاضر با استفاده از خمیر کربن اصلاح شده توسط نانوذره سنتزی روی/فریت و مایع یونی

۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیوم تترافلوئوروبورات، گستره غلظتی مطلوب  $\mu\text{M}$  ۵۰۰/۰-۶/۰ با حد

تشخیص  $\mu\text{M}$  ۰/۱۳ میکرومولار را در بافر فسفات با pH ۶ از خود نشان داد.

**کلمات کلیدی:** تئوفیلین، حسگر الکتروشیمیایی، نیوزوم.

## Abstract

**Introduction:** Theophylline is a methylxanthine drug used to treat obstructive respiratory diseases and has a narrow therapeutic window. For solving this problem pulmonary drug delivery systems could be utilized which to achieve sustained release and better effectiveness. The goal of the present study is to entrap theophylline powder in niosomes and to investigate the physicochemical properties of the formed vesicles, and then to develop an electrochemical sensor to determine the encapsulation efficiency and release of the drug.

**Methods:** At first, theophylline powder was dissolved in chloroform and was added to Tween and Span surfactants, and cholesterol. Phosphate buffer with proper pH was used as the aqueous phase. Niosomes formation was examined by optical microscope and the particle size was analyzed by the laser light scattering method. Non-entrapped amount of theophylline was separated from encapsulated amount by centrifuge. The stability of prepared vesicles was studied for two months and the release of the drug was evaluated by using Franz diffusion cells. A proper electrochemical method was developed for encapsulation efficiency and drug release calculation of the substance.

**Results:** The formulations prepared from different ratios of Span and Tween surfactants and cholesterol, showed proper formation of niosomes in terms of number and size. Particle size distribution of most formulations was in a decent narrow range and they indicate acceptable stability. Release of the drug from selected niosomal formulation follows the Higuchi diffusion model. A high percentage of theophylline was entrapped in niosomes which is ideal. The developed electrochemical sensor based on carbon paste electrode modified with  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  synthetic nanoparticle and 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate as the ionic liquid showed satisfactory concentration range and lower detection limit of 6.0–500.0  $\mu\text{M}$  and 0.13  $\mu\text{M}$  at phosphate buffer pH 6.0, respectively.

**Keywords:** Theophylline, Electrochemical Sensor, Niosome

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه
III.....	Abstract
IV .....	فهرست مطالب
VIII .....	فهرست جدول‌ها
IX .....	فهرست شکل‌ها
X.....	فهرست نمودارها

## فصل اول: مقدمه

۲.....	۱-۱- پیشگفتار و هدف
۳.....	۲-۱- تئوفیلین
۵.....	۳-۱- سامانه‌های جدید دارورسانی - وژیکول‌های چرب
۷.....	۱-۳-۱- مزایای استفاده از لیپوزوم‌ها
۸.....	۲-۳-۱- ساختار لیپوزوم‌ها
۹.....	۴-۱- نیوزوم‌ها
۱۱.....	۱-۴-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی نیوزوم‌ها
۱۱.....	۵-۱- الکتروشیمی
۱۲.....	۱-۵-۱- نانومواد
۱۳.....	۲-۵-۱- الکتروود کار
۱۳.....	۳-۵-۱- الکترودهای خمیر کربن

- ۱-۵-۴- الکترودهای خمیرکربن اصلاح شده ..... ۱۴
- ۱-۵-۵- مایعات یونی ..... ۱۵
- ۱-۶- پیشینه‌ی مطالعات ..... ۱۵

## فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

- ۱-۲- مواد مورد استفاده ..... ۱۸
- ۲-۲- دستگاه‌ها و تجهیزات ..... ۱۹
- ۲-۳- فرمولاسیون نیوزوم‌ها ..... ۲۰
- ۲-۳-۱- ساخت نیوزوم‌های بدون دارو ..... ۲۰
- ۲-۳-۲- ساخت نیوزوم‌های حاوی دارو ..... ۲۱
- ۲-۳-۳- نسبت‌های مورد استفاده در ساخت نیوزوم‌ها ..... ۲۱
- ۲-۴- بررسی خصوصیات فیزیکی نیوزوم‌ها ..... ۲۲
- ۲-۴-۱- توانایی تشکیل نیوزوم‌ها و بررسی خصوصیات ظاهری آن‌ها ..... ۲۲
- ۲-۴-۲- بررسی توزیع اندازه ذره‌ای نیوزوم‌ها ..... ۲۲
- ۲-۴-۳- محاسبه درصد محبوس‌سازی دارو ..... ۲۳
- ۲-۴-۴- بررسی آزادسازی تئوفیلین از نیوزوم‌ها ..... ۲۳
- ۲-۴-۴-۱- سل انتشار فرانز ..... ۲۳
- ۲-۴-۴-۲- بخش گیرنده ..... ۲۳
- ۲-۴-۴-۳- بخش دهنده ..... ۲۳
- ۲-۴-۴-۴- روش بررسی آزادسازی ..... ۲۴



۲۵	۲-۴-۵- بررسی پایداری نیوزوم‌ها
۲۵	۲-۵- آنالیز آماری
۲۵	۲-۶- بررسی رفتار الکتروشیمیایی تئوفیلین
۲۶	۲-۶-۱- الکترودها

## فصل سوم: نتایج

۲۸	۳-۱- بررسی خصوصیات نیوزوم‌ها
۲۹	۳-۱-۱- نمونه‌هایی از تصاویر میکروسکوپی نیوزوم‌های تهیه شده
۳۳	۳-۱-۲- تعیین اندازه ذره‌ای
۳۴	۳-۱-۳- نمودارهای توزیع اندازه ذره‌ای
۳۹	۳-۲- الکتروشیمی
۳۹	۳-۲-۱- انتخاب pH بهینه
۴۱	۳-۲-۲- بررسی تأثیر اصلاح‌سازی سطح الکتروود
۴۳	۳-۲-۳- بررسی امپدانس الکتروشیمیایی
۴۴	۳-۲-۴- تعیین محدوده گستره خطی
۴۵	۳-۲-۵- حد تشخیص روش
۴۶	۳-۲-۶- تکرارپذیری روش
۴۷	۳-۲-۷- بررسی صحت روش اندازه‌گیری
۴۸	۳-۲-۸- بررسی اثر گونه‌های مزاحم
۴۹	۳-۳- مطالعه ویژگی‌های سینتیکی حسگر ساخته شده

۴۹	۱-۳-۳- بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل .....
۵۰	۱-۱-۳-۳- تعیین ضریب انتقال الکترون ( $\alpha$ ) .....
۵۲	۲-۳-۳- مطالعه کروئوآمپرومتری .....
۵۴	۴-۳- آنالیز نمونه‌های واقعی توسط حسگر الکتروشیمیایی ساخته شده .....
۵۴	۱-۴-۳- تعیین مقدار داروی محبوس شده در فرمولاسیون‌های نیوزومی .....
۵۴	۲-۴-۳- بررسی آزادسازی دارو از فرمولاسیون منتخب .....

### فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۵۷	۱-۴- بحث و نتیجه‌گیری .....
۵۷	۱-۱-۴- ساخت و ارزیابی نیوزوم‌ها .....
۶۱	۲-۱-۴- بررسی‌های الکتروشیمیایی تئوفیلین .....
۶۳	۲-۴- پیشنهادات .....

### منابع

۶۵	منابع .....
----	-------------

## منابع

- [1] Bousquet J, Dahl R, Khaltaev N. Global alliance against chronic respiratory diseases. **Eur Respir J** 2007;29:233-9.
- [2] Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, Gillespie S, Burney P, Mannino DM, *et al.* International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. **Lancet** 2007;370:741-50.
- [3] Gershon AS, Warner L, Cascagnette P, Victor JC, To T. Lifetime risk of developing chronic obstructive pulmonary disease: a longitudinal population study. **Lancet** 2011; 378:991-6.
- [4] Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, *et al.* Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. **Am J Respir Crit Care Med** 2007; 176:532-55.
- [5] Control CfD, Prevention. Chronic obstructive pulmonary disease among adults- United States, 2011. **Morb Mortal Wkly Rep** 2012;61:938.
- [6] Xu J, Murphy SL, Kochanek KD, Arias E. Mortality in the United States, 2018. **Suicide**; 214:14.0.
- [7] Urbano FL. Review of the NAEPP 2007 Expert Panel Report (EPR-3) on asthma diagnosis and treatment guidelines. **J Manag Care Spec Pharm** 2008;14:41-9.
- [8] Nel A, Heber D. **Asthma and Inflammation. Immunonutrition.** USA: CRC Press 2014:240-55.
- [9] Blackwell M. The global burden of asthma- executive summary of the GINA Dissemination Committee report. **J Allergy** 2004;59:469-478
- [10] Barnes PJ. Theophylline. **Am J Respir Crit Care Med** 2013;188:901-6.
- [11] Momeni A, Mohammadi MH. Respiratory delivery of theophylline by size-targeted starch microspheres for treatment of asthma. **J Microencapsul** 2009; 26:701-10.
- [12] Desai TR, Finlay WH. Nebulization of niosomal all-trans-retinoic acid: an inexpensive alternative to conventional liposomes. **Int J Pharm** 2002; 241:311-7.
- [13] Rajera R, Nagpal K, Singh SK, Mishra DN. Niosomes: a controlled and novel drug delivery system. **Bio Pharm Bull** 2011;34:945-53.

- [14] Srdjenovic B, Djordjevic-Milic V, Grujic N, Injac R, Lepojevic Z. Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromine, and theophylline in food, drinks, and herbal products. **J Chrom Sci** 2008; 46:144-9.
- [15] Hassaninejad-Darzi SK, Samadi-Maybodi A, Nikou SM. UV-Vis spectrophotometry and multivariate calibration method for simultaneous determination of theophylline, montelukast and loratadine in tablet preparations and spiked human plasma. **Iran J Pharm Res** 2016;15:379.
- [16] Hendeles L, Weinberger M, Johnson G. Monitoring serum theophylline levels. **Clin Pharm** 1978;3:294-312.
- [17] Barnes PJ. Theophylline for COPD. **BMJ Publishing Group Ltd** 2006.
- [18] Ito K, Lim S, Caramori G, Cosio B, Chung KF, Adcock IM, *et al.* A molecular mechanism of action of theophylline: induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. **Proc Natl Acad Sci U.S.A** 2002;99:8921-6.
- [19] Journey JD, Bentley TP. Theophylline toxicity. **StatPearls** 2020;9:125-7
- [20] Hopkins ME, MacKenzie-Ross RV. Case Report: The risks associated with chronic theophylline therapy and measures designed to improve monitoring and management. **BMC Pharmacol Toxicol** 2016;17:1-4.
- [21] Cooling DS. Theophylline toxicity. **Emerg Med J** 1993;11:415-25.
- [22] Haley TJ. Metabolism and pharmacokinetics of theophylline in human neonates, children, and adults. **Drug Metab. Rev** 1983;14:295-335.
- [23] Ogilvie RI. Clinical pharmacokinetics of theophylline. **Clin Pharm** 1978; 3:267-93.
- [24] Yusaf R, Nawaz R, Hayat S, Khursheed A, Zafar N, Ahmad A, *et al.* Structural components of liposomes and characterization tools. **Am J Pharm Res** 2014; 4.
- [25] Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, *et al.* Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale Res Lett** 2013; 8:102.
- [26] Juliano RL. Liposomes as a drug delivery system. **Trends Pharmacol Sci** 1981; 2:39-42.
- [27] Robson A-L, Dastoor PC, Flynn J, Palmer W, Martin A, Smith DW, *et al.* Advantages and limitations of current imaging techniques for characterizing liposome morphology. **Front Pharmacol** 2018;9:80.

- [28] Ahmed KS, Hussein SA, Ali AH, Korma SA, Lipeng Q, Jinghua C. Liposome: Composition, characterisation, preparation, and recent innovation in clinical applications. **J Drug Target** 2019; 27:742-61.
- [29] Kaddah S, Khreich N, Kaddah F, Charcosset C, Greige-Gerges H. Cholesterol modulates the liposome membrane fluidity and permeability for a hydrophilic molecule. **Food and Chem Toxicol** 2018;113:40-8.
- [30] Farzaneh H, Nik ME, Mashreghi M, Saberi Z, Jaafari MR, Teymouri M. A study on the role of cholesterol and phosphatidylcholine in various features of liposomal doxorubicin: From liposomal preparation to therapy. **Int J Pharm** 2018; 551:300-8.
- [31] Pardakhty A, Moazeni E. Nano-niosomes in drug, vaccine and gene delivery: a rapid overview. **Nanomed J** 2013; 1:1-12.
- [32] Ge X, Wei M, He S, Yuan W-E. Advances of non-ionic surfactant vesicles (niosomes) and their application in drug delivery. **Pharmaceutics** 2019;11:55.
- [33] Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MC, Pardakhty A, Asadikaram G, *et al.* Niosomes, an alternative for liposomal delivery. **PLoS One** 2018; 13:e0194179.
- [34] Pando D, Gutiérrez G, Coca J, Pazos C. Preparation and characterization of niosomes containing resveratrol. **J Food Eng** 2013; 117: 227-34.
- [35] Ahmadzadeh S, Rezayi M, Faghih-Mirzaei E, Yoosefian M, Kassim A. Highly selective detection of titanium (III) in industrial waste water samples using meso-octamethylcalix [4] pyrrole-doped PVC membrane ion-selective electrode. **Electrochim Acta** 2015; 178:580-9.
- [36] Faulkner LR, Bard AJ. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. USA: John Wiley and Sons, 2002:21-27.
- [37] Hoyos-Arbeláez J, Vázquez M, Contreras-Calderón J. Electrochemical methods as a tool for determining the antioxidant capacity of food and beverages: A review. **Food Chem** 2017; 221:1371-81.
- [38] Poole Jr CP, Owens FJ. **Introduction to nanotechnology**. USA: John Wiley & Sons, 2003:114-125.
- [39] Barry RC, Lin Y, Wang J, Liu G, Timchalk CA. Nanotechnology-based electrochemical sensors for biomonitoring chemical exposures. **J Expo Sci Environ Epidemiol** 2009; 19:1-18.
- [40] Heard DM, Lennox AJ. Electrode materials in modern organic electrochemistry. **Angew Chem Int Ed Engl** 2020;59:18866-84.

- [41] Jenke DR, Pagenkopf GK. Models for prediction of retention in nonsuppressed ion chromatography. **Anal Chem** 1984;56:88-91.
- [42] ADAMS RN. Carbon paste electrodes. **Rev Polarogr** 1963;11:71-8.
- [43] Kalcher K. Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. **Electroanalysis** 1990;2:419-33.
- [44] Florou AB, Prodromidis MI, Karayannis MI, Tzouwara-Karayanni SM. Flow electrochemical determination of ascorbic acid in real samples using a glassy carbon electrode modified with a cellulose acetate film bearing 2, 6-dichlorophenolindophenol. **Anal Chim Acta** 2000;409:113-21.
- [45] Rezaei B, Damiri S. Electrochemistry and adsorptive stripping voltammetric determination of amoxicillin on a multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis** 2009;21:1577-86.
- [46] Sun W, Li Y, Duan Y, Jiao K. Direct electrochemistry of guanosine on multi-walled carbon nanotubes modified carbon ionic liquid electrode. **Electrochim Acta** 2009; 54:4105-10.
- [47] Ohno H. Importance and possibility of ionic liquids. **Electrochemical Aspects of Ionic Liquids** 2005:1.
- [48] Wei D, Ivaska A. Applications of ionic liquids in electrochemical sensors. **Anal Chim Acta** 2008;607:126-35.
- [49] Lewandowski A, Świdorska-Mocek A. Ionic liquids as electrolytes for Li-ion batteries An overview of electrochemical studies. **J Power Sourc** 2009; 194:601-9.
- [50] Singh VV, Nigam AK, Batra A, Boopathi M, Singh B, Vijayaraghavan R. Applications of ionic liquids in electrochemical sensors and biosensors. **Int J Electrochem** 2012; 20.
- [51] Cinková K, Zbojčková N, Vojs M, Marton M, Samphao A, Švorc L. Electroanalytical application of a boron-doped diamond electrode for sensitive voltammetric determination of theophylline in pharmaceutical dosages and human urine. **Anal Method** 2015;7:6755-63.
- [52] Yang YJ, Guo L, Zhang W. The electropolymerization of CTAB on glassy carbon electrode for simultaneous determination of dopamine, uric acid, tryptophan and theophylline. **J Electroanal Chem** 2016;768:102-9.
- [53] Uchegbu IF, Vyas SP. Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery. **Inte J Pharm** 1998;172:33-70.

- [54] Barani M, Nematollahi MH, Zaboli M, Mirzaei M, Torkzadeh-Mahani M, Pardakhty A, *et al.* *In silico* and *in vitro* study of magnetic niosomes for gene delivery: The effect of ergosterol and cholesterol. **Mater Sci Eng C** 2019; 94:234-246.
- [55] Pardakhty A, Varshosaz J, Rouholamini A. *In vitro* study of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin. **Int J Pharm** 2007; 328:130-141.
- [56] Varshosaz J, Pardakhty A, Hajhashemi V-i, Najafabadi AR. Development and physical characterization of sorbitan monoester niosomes for insulin oral delivery. **Drug Deliv** 2003;10:251-62.
- [57] Hao Y, Zhao F, Li N, Yang Y, Li Ka. Studies on a high encapsulation of colchicine by a niosome system. **Int J Pharm** 2002;244:73-80.
- [58] Lagerquist C, Beigi F, Karlén A, Lennernäs H, Lundahl P. Effects of cholesterol and model transmembrane proteins on drug partitioning into lipid bilayers as analysed by immobilized-liposome chromatography. **J Pharm Pharmacol** 2001; 53:1477-1487.
- [59] Mohawed O, El-Ashmoony M. Niosome-encapsulated clomipramine for transdermal controlled delivery. **Int J Pharm Pharm Sci** 2014;6.
- [60] Uchegbu IF, Florence AT. Non-ionic surfactant vesicle (niosomes): physical and pharmaceutical chemistry. **Adv Coll Int Sci** 1995;58:1-55.
- [61] Pardakhty A, Varshosaz J, Rouholamini A. *In vitro* study of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin. **Int J Pharm** 2007;328:130-41.
- [62] Agarwal S, Bakshi V, Vitta P, Raghuram A, Pandey S, Udupa N. Effect of cholesterol content and surfactant HLB on vesicle properties of niosomes. **Indi J Pharm Sci** 2004; 66:121-123.
- [63] Yoshioka T, Sternberg B, Florence AT. Preparation and properties of vesicles (niosomes) of sorbitan monoesters (Span 20, 40, 60 and 80) and a sorbitan triester (Span 85). **Int J Pharm** 1994;105:1-6.
- [64] Singhvi G, Singh M. In-vitro drug release characterization models. **Int J Pharm Stud Res** 2011;2:77-84.
- [65] Gouda R, Baishya H, Qing Z. Application of mathematical models in drug release kinetics of carbidopa and levodopa ER tablets. **J Dev Drugs** 2017;6.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم محدثه محسنی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۳ به شماره ۱۲۶۷

تحت عنوان:

تهیه فرمولاسیون نیوزوم استنشاقی تنوفیلین و توسعه ی روش آنالیز آن با استفاده از حکر حس الکتروشیمیایی

استاد (اساتید) راهنما:

دکتر عباس پرداختی

دکتر سعید احمدزاده

استاد (اساتید) مشاور: -

هیئت محترم داوران:

۱- دکتر مصطفی پورنامداری

۲- دکتر غلامرضا دهقان

در تاریخ ۹۹/۱۲/۱۶ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸,۹۳ .....  
(با حروف) محمد رضا نخعی ..... به تصویب رسید.

دکتر میترا مهربانی  
معاون پژوهشی دانشکده

محمد رضا نخعی  
کارشناس اداره پایان نامه

دکتر باقر امیرحیدری  
رئیس دانشکده



۹۹/۱۲/۱۶